Aus dem Hygienischen Institut der Universität Marburg.
Direktor: Professor Dr. W. Pfannenstiel.

Untersuchungen über die etwaige pathogene Bedeutung der gramfesten, aëroben Sporenbildner für die Entstehung von Stomatitiden

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der Zahnheilkunde

der Hohen Medizinischen Fakultät

der Philipps-Universität zu Marburg

vorgelegt von

Fritz Brünninghaus
Zahnarzt aus Brilon i. Westf.

Marburg 1933
Verlag Gustav Fischer, Jena

Aus dem Hygienischen Institut der Universität Marburg.
Direktor: Professor Dr. W. Pfannenstiel.

Untersuchungen über die etwaige pathogene Bedeutung der gramfesten, aëroben Sporenbildner für die Entstehung von Stomatitiden

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der Zahnheilkunde

der Hohen Medizinischen Fakultät

der Philipps-Universität zu Marburg

vorgelegt von

Fritz Brünninghaus
Zahnarzt aus Brilon i. Westf.

Marburg 1933
Verlag Gustav Fischer, Jena

Angenommen von der Medizinischen Fakultät in Marburg am 24. 2. 33.

Gedruckt mit Genehmigung der Fakultät.

Referent: Professor Dr. W. Pfannenstiel.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Sonderabdruck aus dem
Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.
I. Abteilung. Originale.
1933, Bd. 128.
Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Bisherige Anschauungen über die Aetiologie von Stomatitiden.

Die Aetiologie der Stomatitiden hat bereits eine umfangreiche Bearbeitung gefunden. Der größte Teil der sich mit diesem Problem beschäftigenden Untersucher begnügte sich mit der alleinigen Feststellung der in dem geschädigten Gewebe nachweisbaren Bakterien. Einige dieser Forscher gingen sogar so weit, aus der Häufigkeit des Nachweises einer oder mehrerer Bakterienarten Schlüsse auf die pathogenetische Bedeutung dieser Mikroorganismen für die Stomatitis zu ziehen. Besonders auffallend erschien der häufige Befund fusiformer Stäbchen und Spirochäten in den Stomatitisgeschwüren. Es wurden jedoch auch zahlreiche Tierversuche unternommen, um über die krankmachenden Eigenschaften jener Keime Aufschluß zu erhalten. Der größte

Teil dieser Versuche gestattet aber keinen eindeutigen Schluß, da wegen der äußerst schweren Züchtbarkeit der genannten Keime keine Reinkulturen, sondern entweder das Krankheitsmaterial (Eiter oder Abstriche von Geschwüren) selbst oder Mischkulturen zur Verimpfung kamen.

Frühwald hat sich als erster mit der Bakteriologie der Stomatitis ulcerosa befaßt. Er züchtete bei mehreren Fällen aus den Schleimhautgeschwüren ein gramfreies, bewegliches Stäbchen, das bei intrapleuraler Injektion Mäuse tötete. Bei subkutaner Injektion rief es bei Kaninchen lokale Abszesse hervor. Versuche an der durch Skarifikation oder Betupfen mit heißem, destilliertem Wasser geschädigten Mundschleimhaut dieser Tiere verliefen negativ.

Bernheim und Pospischill kommen auf Grund ihrer bakteriologischen Untersuchungsergebnisse bei der Stomatitis zu dem Schlusse, daß diese mit der Plaut-Vincentschen Angina eine pathogenetische Einheit darstelle. Sie fanden bei ca. 30 Fällen der Stomatitis ulcerosa im mikroskopischen Bild Bazillen, die nach ihren Angaben eine gewisse Aehnlichkeit mit Diphtheriebazillen hatten. Die Keime waren aber größer, an beiden Enden zugespitzt, gramfrei (allerdings erst nach längerer Alkoholeinwirkung) und zeigten im hängenden Tropfen träge Wackelbewegung. Aus diesen Angaben geht hervor, daß die beschriebenen Bakterien fusiforme Stäbchen waren. In gleicher Anzahl wurden auch feine Spirochäten beobachtet. Trotz vieler Mühe gelang es damals aber nicht, diese Keime zu züchten; deshalb konnten auch keine Tierversuche ausgeführt werden.

Abel sah in Uebereinstimmung mit Bernheim das gleiche bakterielle Bild; in einem Falle gelang es ihm sogar, die vorgenannten Bakterien in zwei Passagen auf Serumagar zu züchten. Doch läßt er die Frage offen, inwieweit diese Bazillen als Erreger der Stomatitis anzusehen sind. Die Spirochäten jedoch hält er nur für Schmarotzer.

Fusiforme Stäbchen wurden auch verschiedentlich von Seitz bei Munderkrankungen nachgewiesen, der sie als Bacillus hastilis (Stinkspieße) bezeichnet. Auch diesem Autor gelang nur die Mischkultur mit anderen Keimen in Kondenswasser von Serumagar und in Bouillon. Tierversuche mit diesen Mischkulturen verliefen negativ.

Das Vorkommen der fuso-spirillären Symbiose bei Stomatitiden wird auch von Weinhard bestätigt, der allerdings außer diesen Keimen noch Strepto- und Staphylokokken, außerdem kleine und mittelgroße Diplokokken und Stäbchen fand. Auf Grund der von ihm und vorher auch schon von Seidel gemachten klinischen Erfahrungen, daß die Spirochäten in den Geschwüren durch Salvarsaninjektionen nicht beeinflußt werden, kommt er zu der Annahme, daß diesen Keimen keine pathogene Bedeutung zukomme, und daß sie nur als Schmarotzer auf dem durch die fusiformen Stäbchen geschädigten Gewebe leben. Züchtungsversuche der fusiformen Stäbchen verliefen negativ, ebenso — bis auf einen Fall — Tierversuche, die derart vorgenommen wurden, daß ein Abstrichtupfer von Stomatitispatienten in Taschen der Mund- oder Vaginalschleimhaut eingenäht wurde. In dem einen positiven Falle kam es zur Bildung eines Geschwüres in der Vaginalschleimhaut, in welchem massenhaft fusiforme Stäbchen und Spirochäten nachgewiesen werden konnten.

Auch die Tierversuche von Mühlens, der Reinkulturen von fusiformen Stäbchen auf die verschiedensten Arten (intravenös, intraperitoneal, subkutan und intramuskulär) Kaninchen injizierte, verliefen bis auf einen Fall, bei dem bei subkutaner Injektion ein lokaler Abszeß zur Ausbildung kam, negativ.

Carpano berichtet von Stomatitiden bei Jagdhunden, die durch eine vorher überstandene Piroplasmoseerkrankung geschwächt waren. Die mikroskopische Untersuchung der Schleimhautabstriche ergab überwiegend die fuso-spirilläre Flora untermischt mit anderen Bakterien. Bemerkenswert erscheint dem Autor der Befund, daß an der Grenzlinie zwischen gangränöser Partie und lebendem Gewebe nur fusiforme Stäbchen und Spirillen — und zwar in großer Zahl — nachweisbar waren. Künstliche Infektionsversuche gelangen nur bei Tieren, deren Widerstandskräfte z. B. durch eine gleichzeitige Piroplasmoseinfektion stark herabgesetzt waren. Der Autor kommt zu dem Schluß, daß die Stomatitis lediglich durch sonstige durchgemachte Erkrankungen bereits geschwächte Individuen befällt.

Rona konnte bei mehreren Stomatitispatienten das von anderen Autoren schon beschriebene mikroskopische Bild bestätigen. Bei der Untersuchung des exzidierten Geschwürsgewebes fand er eine starke Anreicherung der fusiformen Stäbchen in dem an die nekrotischen Partien des Geschwürs angrenzenden Gebiet der Leukozyteninfiltration, während sich im benachbarten nekrotischen Gewebe nur in den tiefsten Teilen und auch dort nur stellenweise fusiforme Stäbchen fanden. Kultur- und Tierversuche sind von Rona nicht gemacht worden.

Bei einer tödlich verlaufenden Stomatitis gelang es Ellermann, fusiforme Bazillen in Reinkultur zu züchten. Er gewann sie aus dem Abszeßeiter eines Kaninchens, das mit einer aus dem Geschwürsabstrich gewonnenen Mischkultur geimpft war. Infektionsversuche mit Reinkulturen machte er nicht.

Fischer fand bei einer primären febrilen Stomatitis ein kleines, gramfreies, streng aerobes, fäulniserregendes Stäbchen: Bacterium stomatofoetidum. Es wuchs auf allen Substraten. Tierversuche an Kaninchen, die durch große Alkoholdosen geschwächt waren, und

bei denen Reinkulturen des beschriebenen Stäbchens oberflächlich auf die Schleimhaut verbracht oder in die oberen Schleimhautschichten injiziert wurden, verliefen negativ. Auch nach subkutaner und intravenöser Injektion bei Mäusen erwies sich die Reinkultur als apathogen.

Im Gegensatz zu den bisher genannten Untersuchern beschreiben Frese und Levinstein Fälle von rezidivierender ulzeröser Stomatitis[1]), die durch eine besondere Keimarmut ausgezeichnet waren. Beide Untersucher fanden keine Fusiforme und Spirochäten, sondern nur vereinzelt Mikrokokken, Levinstein ganz vereinzelt auch Stäbchen.

Aus den ganzen eben beschriebenen Versuchen und Untersuchungen geht nicht eindeutig hervor, daß die fuso-spirilläre Symbiose oder eine andere bestimmte Bakterienart als Urheber der Stomatitis ulcerosa aufzufassen ist. Anderseits zeigen die tierexperimentellen Untersuchungen von Carpano, daß das bakterielle Moment allein für die Entstehung der Stomatitis nicht entscheidend, sondern daß hierfür offenbar eine besondere Disposition der Schleimhaut notwendig ist, die sich in einem durch die verschiedenartigsten Einwirkungen geschädigten Organismus entwickeln kann. Die Annahme findet ihre Bestätigung in der allgemeinen klinischen Erfahrung, daß es bei den verschiedenartigsten inneren Erkrankungen (hämorrhagischer Diathese, z. B. bei Skorbut; chemisch toxischen Erkrankungen, z. B. Merkurialismus, Bleivergiftung; infektiös-toxischen Erkrankungen, z. B. Typhus), die mit einer starken Resistenzverminderung des befallenen Organismus einhergehen, zur Entstehung von Stomatitiden kommen kann. Auch durch schlechte Zahn- und Mundpflege und gleichzeitige starke Zahnkaries wird die Erkrankungsbereitschaft der Mundschleimhaut erhöht.

Etwaige Pathogenität aerober, gramfester Sporenbildner.

Gelegentlich wird das Auftreten einer Stomatitis ulcerosa nach Gebrauch einer neuen Zahnbürste beobachtet. Viefhaus zeigte, daß jede der im Handel befindlichen Zahnbürsten als infiziert anzusehen ist. Er fand bei seinen bakteriologischen Untersuchungen neben den verschiedensten anderen Keimen hauptsächlich Bazillen aus der Subtilis- und Mesentericus-Gruppe. Diese sporenbildenden Stäbchen werden meist als harmlose Saprophyten angesehen. Doch sind aus der Literatur verschiedene Fälle bekannt, wo sich diese Keime als sehr virulent erwiesen und äußerst pathogene Eigenschaften entwickelten. Es mögen dies nur vereinzelte, besonders ausgestattete Stämme gewesen sein, denn im Tierversuch gelingt es nicht oft, eine Pathogenität dieser Bazillen nachzuweisen. Jedenfalls zeigen die in folgendem angeführten Beobachtungen der verschiedenen Autoren, daß die Möglichkeit einer Infektion durch diese Keime gegeben ist.

Besonders empfänglich für Infektionen mit diesen Keimen scheint das Auge zu sein. Verschiedene Autoren (Silberschmidt, Kayser) berichten von Panophthalmien, bei denen sie als Erreger den Bacillus subtilis feststellten. Sie konnten auch mit den aus dem erkrankten Auge herausgezüchteten Keimen das Krankheitsbild an Kaninchen reproduzieren.

Michalski fand bei vielen Patienten den Bacillus subtilis als Erreger einer Konjunktivitis. Er konnte durch Einreiben der herausgezüchteten Stäbchen ins Auge bei Kaninchen ebenfalls Konjunktivitis, und durch ihre Einspritzung in den Glaskörper des Auges eine Panophthalmie erzeugen.

Stregulina züchtete Subtilisstämme aus dem Züricher Boden. Von 25 Bazillenstämmen töteten 16 Meerschweinchen nach intraperitonealer Einspritzung. Drei von den 16 pathogenen Stämmen wurden in den Glaskörper von Kaninchen eingespritzt und erzeugten dort eine Eiterung.

Auch bei Magen- und Darmaffektionen können Subtiliskeime als Erreger in Frage kommen. Wenn sie auch schon normalerweise im Säuglingsstuhl vorkommen, so sollen sie

1) Frese weist in seiner Arbeit darauf hin, daß die Fälle nach dem klinischen Bild eindeutig als Stomatitis ulcerosa, nicht als Stomatitis aphthosa zu bezeichnen sind.

auch hier unter Umständen toxische Wirkungen, z. B. das Krankheitsbild der Cholera infantum, auslösen können.

Ueber eine durch derartige Bazillen bedingte Gastroenteritisepidemie bei Erwachsenen berichtet Lubenau. Dreiviertel von 400 Insassen einer Krankenanstalt erkrankten nach Genuß von Königsberger Klopsen. In der Speise fand sich in Reinkultur ein Subtilis-ähnlicher Keim, den Lubenau Bacillus peptonificans nennt. Bei peroraler Verabreichung an Hunde rief der Bazillus stärkere Diarrhöen hervor, die aufhörten, sobald die Nahrung nicht mehr infiziert wurde.

A. Seitz stellte bei einer schweren, mit heftigen profusen Diarrhöen einhergehenden Enteritis eines jungen Chinesen sowohl im Schleimausstrich als auch in den Fäzes eine Unmenge Heubazillen fest. Fütterungs- und subkutane Injektionsversuche zeigten deren Giftigkeit für Mäuse (für Meerschweinchen erst in größeren Mengen).

Auch zwei Fälle von eitriger Meningitis sind bekannt, die durch Heubazillen hervorgerufen wurden. Einmal trat diese Erkrankung im Anschluß an eine bei der Geburt entstandene Subduralblutung bei einem 6 Wochen alten Kinde auf. Aus dem bei der Hirnpunktion und bei der operativen Eröffnung des Eiterherdes gewonnenen Exsudat, sowie auch aus dem 2 Std. nach dem Tode durch Punktion erhaltenen Herzblute wurde von Lindberg ein typischer Bacillus subtilis isoliert. Er zeigte sich allerdings als wenig tierpathogen.

Den anderen Fall veröffentlichte Senge. Bei einer 58jährigen Frau stellte sich nach einer Lumbalanästhesie eine Meningitis purulenta und Encephalitis haemorrhagica ein. Im mikroskopischen Bild des Eiters und in der Kultur fanden sich Subtilis-ähnliche Bazillen. Diese waren für Mäuse pathogen, aber nicht für Kaninchen.

Fiessinger und Barrieu stellten wiederholt den Bacillus mesentericus neben Saprophyten in nekrotischen Wunden fest. Sie konnten zeigen, daß die alleinige Injektion von Mesentericus- oder Mycoides-Reinkulturen bei Meerschweinchen keine Erkrankungen hervorrief; dagegen erzeugten diese Bazillen bei ihrer Einspritzung im Verein mit nicht pathogenen Streptokokken lokale Abszesse und Muskelnekrosen.

Knorr hält es für nicht ausgeschlossen, daß bei der Katgutinfektion aerobe, sporenbildende Erdbazillen nicht unbeteiligt sind; denn diese sind im Katgut zahlreich gefunden worden, und Knorr konnte feststellen, daß für Mäuse nicht jeder Erdbazillus apathogen ist.

In einer neueren experimentellen Arbeit gelang es Fleischner, einen äußerst giftigen Subtilisstamm zu züchten, der von einer ganz genau bestimmbaren Dosierungsgrenze an sicher tödlich wirkt, unter dieser aber auf die Versuchstiere überhaupt wirkungslos ist.

Es ist demnach von vornherein nicht auszuschließen, daß Subtilis- oder Mesentericus-Keime auch als Erreger einer Stomatitis in Frage kommen oder wenigstens ein begünstigendes Moment bei deren Zustandekommen bilden können. Gerade bei einer neuen Zahnbürste, bei der die Borsten noch hart und spitz sind, entstehen leicht Epithelläsionen der Mundschleimhaut, die das Zustandekommen einer Stomatitis begünstigen können.

Eigene Versuche.

Auf Grund der vorstehenden Erwägungen habe ich durch tierexperimentelle Prüfung der Pathogenität von Subtilisbazillen und anderen aeroben, gramfesten Sporenbildnern für die Mundschleimhaut die Bedeutung der Zahnbürsteninfektion bei der Entstehung der Stomatitis zu klären gesucht.

a) Bakteriologische Eigenschaften der untersuchten Stämme.

Die hierfür erforderlichen Stämme habe ich aus 20 neuen Zahnbürsten herausgezüchtet, die ich mir aus verschiedenen Marburger Geschäften besorgte. Die Zahnbürsten wurden kräftig in gewöhnlicher Bouillon umgeschwenkt. Nach 24stünd. Bebrütung verimpfte ich aus diesem Nährboden mehrere Oesen im Dreiösenausstrich auf Agarplatten und legte von den verschiedenen nach 24stünd. Bebrütung der Platten zur Entwickelung gekommenen Kolonien Reinkulturen an. Von diesen wurden nur die Kulturen der gramfesten, sporenbildenden Stämme weiter verfolgt, da nur diese später im Tierversuch geprüft werden sollten. Zu ihrer Identifizierung diente zuerst das Grampräparat und die Beobachtung im hängenden Tropfen. Hierbei achtete

ich auf Form, Färbung, Lagerung und Größe der Bazillen, auf Sporenbildung und Beweglichkeit. Weiterhin untersuchte ich das Wachstum und Verhalten auf der Agarplatte, in Bouillon, im Gelatinestich und auf dem Kartoffelnährboden. Bei einzelnen Stämmen kamen zur Sicherung der Diagnose auch noch Spezialnährböden (Zuckernährböden, Milch, Trypsinbouillon usw.) zur Anwendung.

Im ganzen habe ich aus den Zahnbürsten 21 Stämme von gramfesten, aeroben Sporenbildnern isoliert. In jeder Zahnbürste war ein solcher Stamm vorhanden. Aus einer Bürste wurden zwei verschiedene Stämme gezüchtet. Es wurden gefunden: zwölfmal typische Heubazillen, viermal Kartoffelbazillen (Bacillus vulgatus Flügge) und viermal Mesentericusbazillen (Bacillus mesentericus Flügge), von denen sich ein Stamm durch die langsame Sporenbildung — erst nach ca. 8 Wochen traten Sporen auf — sowie durch die äußerst langsame Gelatineverflüssigung, die erst nach 3 Wochen Brutschrankaufenthalt bei 22° begann, von dem typischen Verhalten des Bacillus mesentericus unterschied.

Weiterhin fand sich in einer Zahnbürste ein Stäbchen, welches nach seinem mikroskopischen und kulturellen Verhalten der Gruppe des Bacillus sphaericus (Bacillus sphaericus Meyer und Neide) zuzurechnen ist. Es handelte sich um ein bewegliches, mittelgroßes, mittelschlankes Stäbchen mit endständigen, ovalen, den Bazillenleib mächtig auftreibenden, tetanusähnlichen Sporen, das allerdings im Gegensatz zu dem gramfreien Bacillus sphaericus sich nach Gram färbte. Doch finden sich in der vorgenannten Bazillengruppe verschiedene Unterarten, die ebenfalls gramfest oder gramlabil sind (Lehmann und Neumann). Die Agaroberflächenkultur dieses Stäbchens zeigte kleine, zarte, graubläuliche Kolonien; die Bouillon wurde nur schwach getrübt, die Gelatine sehr langsam — erst nach ungefähr 14tägiger Bebrütung bei 22° — verflüssigt. Auf der Kartoffel wuchs das Stäbchen als dünner, glänzender, gelblicher Rasen.

b) Zytolytisches Vermögen.

Von wesentlicher Bedeutung für eine etwaige Beteiligung dieser Keime bei der Auslösung der nach Ingebrauchnahme einer neuen Zahnbürste zuweilen entstehenden Stomatitiden erschien der Umstand, daß Subtilis-, Mesentericus- und ähnliche Keime außer ihren starken proteolytischen Eigenschaften, welche sich z. B. in der Verflüssigung der Gelatine äußern, zuweilen auch lebende Zellen aufzulösen vermögen. Die hämolytische Fähigkeit mancher dieser Keimarten weist bereits auf ihr Zellösungsvermögen hin. Bei einer gewissen Mycoidesart (Mycoides „Much") beobachteten Much und seine Mitarbeiter, daß dieser Keim imstande ist, selbst andere Bakterienzellen (Typhus, Cholera, Proteusbazillen) innerhalb kurzer Zeit (3—4 Tagen) vollkommen aufzulösen. Auch Schiller konnte bei Mesentericus-Bazillen ein Auflösungsvermögen anderen Bakterien gegenüber feststellen, allerdings nur unter den besonderen Bedingungen des Hungermilieus, d. h. bei Züchtung in destilliertem Wasser oder auf Wasseragar.

Um unter den zahlreichen aus den Zahnbürsten herausgezüchteten aeroben Sporenbildnern von vornherein jene herauszuerkennen, die nach ihrem etwaigen zytolytischen Vermögen besonders geeignet für Tierversuche erschienen, habe ich zuerst sämtliche Stämme unter Befolgung der Muchschen Versuchsanordnung auf ihre Fähigkeit, andere Bakterien aufzulösen, untersucht.

Ich beimpfte je ein Bouillonröhrchen mit Typhus-, Coli-, Pseudoruhrbazillen und Staphylokokken, beließ diese Kulturen 24 Std. bei 37°. Sodann stach ich von einer 24stünd. Agarplattenreinkultur des auf seine zytolytischen

Eigenschaften zu prüfenden Stammes ein dünnes Stückchen der bewachsenen Agaroberfläche mit einem Spatel aus und brachte es auf der getrübten Bouillon zum Schwimmen. Die Bouillonkulturen kamen sodann wieder in den Brutschrank und wurden während der folgenden Tage beobachtet. Die meisten geprüften, gramfesten Sporenbildner riefen in der Bouillonkultur keine Veränderung hervor. Die Trübung der Bouillon blieb, nachdem sich gewöhnlich (besonders bei den Subtilisstämmen) ein Häutchen auf der Flüssigkeitsoberfläche gebildet hatte, bestehen.

Lediglich bei 5 Stämmen — vier Kartoffel- und einem Heubazillenstamm — war eine gewisse Veränderung im Aussehen der Bouillonkultur zu beobachten. Bei einem Kartoffelbazillenstamm zeigte sich nach 6 Tagen eine vollständige Klärung der mit Typhus- bzw. Pseudoruhrbazillen bzw. Staphylokokken geimpften Bouillon. In der mit Pseudoruhr geimpften Bouillon hatte sich schon nach 3 Tagen eine schmale, klare Zone unmittelbar unter dem Häutchen ausgebildet. Die Klärung der Bouillon schritt in der Folgezeit nach unten fort. Die mit Colibazillen beimpfte Bouillon zeigte nach 6 Tagen noch keine Veränderung. Nach 14 Tagen war auch sie vollkommen klar.

Bei den 3 anderen Kartoffelbazillenstämmen und dem Heubazillenstamm wurde nur eine geringe Klärung der Bouillonkulturen einiger Teststämme und diese erst nach 9 Tagen beobachtet. Irgendwelche Gesetzmäßigkeiten in der mehr oder weniger leichten Auflösbarkeit der Testbakterienstämme waren hierbei nicht feststellbar. Selbst nach Ablauf von 14 Tagen blieb in diesen Versuchen immer noch eine ganz leichte Trübung der Bouillon bestehen.

Drei Wochen nach der Beimpfung wurden sämtliche geklärten Typhus-, Pseudoruhr-, Coli- und Staphylokokkenkulturen auf Endoagar übertragen. Bei keiner der Kulturen ließ sich hierbei ein Wachstum erzielen, während die in der gleichen Weise weitergeimpften Kontrollen stets angingen.

Von den als Prüfungsobjekt für die etwaige zytolytische Wirkung der aus den Zahnbürsten herausgezüchteten gramfesten Sporenbildner dienenden Stämmen waren nämlich Kontrollbouillonkulturen angelegt und diese ebenfalls 3 Wochen lang im Brutschrank beobachtet worden. Bei keinem der verwandten Stämme ließ sich eine Klärung bzw. ein Zugrundegehen der Bouillonkulturen feststellen.

Es gelang mir also, unter den aus den Zahnbürsten herausgezüchteten Stämmen zwar in keinem Falle eine gleich rasch eintretende und starke Bakteriolyse zu erhalten, wie sie Much bei seinen Zytolytikusstämmen beobachtet hat, die bereits nach 3—4 Tagen eine völlige Klärung der mit den Testbakterien beimpften Bouillonröhrchen herbeiführten. Immerhin war ein gewisses Bakterienauflösungsvermögen auch bei einigen der von mir untersuchten Stämme deutlich erkennbar. Da diejenigen Kulturen, die ein geringes, wenn auch erst verspätet in Erscheinung tretendes zytolytisches Vermögen zeigten, am ehesten zur experimentellen Erzeugung von Stomatitiden geeignet schienen, wurden diese in erster Linie im Tierversuch erprobt.

c) Tierpathogenität.

Als Versuchstier schien mir für die geplanten Untersuchungen das Kaninchen geeignet. Dieses hat schon physiologisch tiefe Zahnfleischtaschen, die einen genügend langen Kontakt des in sie verbrachten Infektionsmaterials mit der Schleimhaut gewährleisten.

Die submuköse Injektion des Infektionsmaterials, wie sie z. B. Fischer in seinen Tierversuchen gebrauchte, habe ich nicht angewandt, da sie nicht der natürlichen, bei Gebrauch einer Zahnbürste zustandekommenden Infektion entspricht.

Die bei meinen Tierversuchen verfolgte Versuchstechnik war folgende: Von einer 24stünd. Agarreinkultur des zu prüfenden Stammes verbrachte ich etwa 3 Normalösen mittels einer zur Schleife ausgezogenen Platinnadel in die Zahnfleischtasche der beiden unteren Schneidezähne des Kaninchens. Hierbei bemühte ich mich, zuerst jede, auch nur geringe Epithelläsion durch den eingebrachten Platindraht zu vermeiden. In weiteren Versuchen habe ich dann durch Einbringung des Infektionsmaterials mittels eines zugespitzten Platindrahtes und durch Skarifikation der Zahnfleischtaschen durch die Platinnadel den Einfluß der hinzutretenden primären Epithelläsion auf das Zustandekommen der Schleimhautinfektion geprüft.

Zur Kontrolle, inwieweit allein schon die Manipulation an der Zahnfleischtasche entweder direkt oder durch Begünstigung des Eindringens der normalen Mundkeime Anlaß zur Entstehung einer Schleimhautentzündung geben kann, habe ich bei einer Reihe von Tieren nur eine Skarifikation der Zahnfleischtaschen ohne Einbringung von Kulturmaterial vorgenommen.

Die Verimpfung des infektiösen Materials wurde bei jedem zu prüfenden Stamme 4- bis 5mal in Abständen von 24—48 Std. wiederholt. Auf diese Art wurden im ganzen 17 Stämme von gramfesten, aeroben Sporenbildnern untersucht. Bei einzelnen Stämmen wurde der Versuch mehrfach an anderen Tieren wiederholt, so daß sich die Gesamtzahl der Einzelversuche auf 24 belief.

Zunächst prüfte ich die Pathogenität der 5 Kulturen, die sich in den vorerwähnten Zytolyseversuchen als wirksam erwiesen hatten. Hierbei ergab sich, daß 3 der untersuchten Stämme (Kartoffelbazillus Nr. 3, 5 und 10) überhaupt keine Veränderungen an der Mundschleimhaut der geimpften Kaninchen hervorriefen. Bei dem mit dem Subtilisstamm (Subtilis Nr. 1) geimpften Tiere (Kaninchen Nr. 31) zeigte sich einen Tag nach der Impfung an der lingualen Seite des linken unteren Schneidezahns ein ungefähr linsengroßer, unregelmäßig begrenzter Epitheldefekt der Schleimhaut. Ein Belag war nicht feststellbar. Bakteriologisch ließen sich aus dem Abstrich dieser Stelle kurze, gramfreie, coliähnliche Stäbchen, vergrünende Streptokokken und gramfeste bewegliche kurze, fast kokkenförmige Stäbchen züchten, die keine Sporen bildeten und Gelatine nicht verflüssigten, also sicher nicht zur Subtilisgruppe gehörten.

Trotz der in den folgenden Tagen vorgenommenen Nachimpfung heilte der Epitheldefekt glatt ab. Eine zweimalige später vorgenommene Wiederholung dieses Versuches mit demselben Subtilisstamm (Nr. 1) an zwei anderen Tieren verlief völlig ergebnislos. Dagegen kam es bei dem zuerst mit dem Subtilisstamm (1) geimpften Tier — Kaninchen Nr. 31 —, welches nach der glatten Abheilung des vorgenannten Epitheldefekts nochmals mit dem Subtilisstamm geimpft worden war, zu der Entstehung eines ca. linsengroßen, zottigen, blumenkohlartigen, ziemlich derben Gebildes, welches breit an der lingualen Schleimhautseite des rechten unteren Schneidezahnes aufsaß und teilweise auch auf die linke Seite übergriff.

Die histologische Untersuchung ergab eine beträchtliche Epithelverdickung mit Parakeratose an den oberflächlichen Schichten. Von Entzündung war nichts nachweisbar. Es erinnerte die Veränderung etwa an warzenartige Bildungen bzw. an leukoplakieartige Zustände.

Von den Tieren, die mit den 5 als zytolytisch erkannten Zahnbürstenstämmen infiziert worden waren, entwickelte ferner das mit dem Kartoffelbazillus Nr. 7 geimpfte Kaninchen Nr. 33 24 Std. nach der Infektion ein aphthenähnliches, ungefähr linsengroßes Schleimhautulkus an der linken Seite der Gingiva, zwischen den beiden unteren Schneidezähnen in ungefähr 1 mm Entfernung vom Zahnhalsrand. Auch dieses heilte trotz weiterer Nachimpfung

in den folgenden 4 Tagen schnell ab. Bei einer 2 Wochen später vorgenommenen Wiederholung des Versuches erwies sich der Stamm (Kartoffelbazillus Nr. 7) als völlig wirkungslos.

Die übrigen aus den Zahnbürsten gezüchteten, gramfesten Aerobier (11 Subtilis-, 4 Mesentericus-Stämme, 1 Sphaericus-Stamm) sowie auch 1 aus Erde gewonnener Mycoides-Stamm erwiesen sich in den nach der oben beschriebenen Technik vorgenommenen Tierversuchen als völlig wirkungslos.

Es ist mir also in den beschriebenen Tierversuchen nicht gelungen, den Beweis zu erbringen, daß aus Zahnbürsten gezüchtete gramfeste, aerobe Sporenbildner als Erreger von Mundschleimhauterkrankungen in Frage kommen.

Der bei der ersten Verimpfung des Subtilisstammes Nr. 1 beobachtete Epitheldefekt dürfte nicht durch die Bakterieneinbringung in die Zahntasche hervorgerufen sein, da er in einem Gebiet der Schleimhaut lag, das mit dem verimpften Material kaum in Berührung gekommen ist. Die ganz oberflächliche Lage der Nekrose spricht auch gegen die Annahme, daß sie durch Fortschreiten eines Entzündungsprozesses von der Zahntasche her entstanden ist.

Das eben Gesagte gilt auch für das nach Verimpfung des Kartoffelbazillenstammes Nr. 7 beobachtete Ulkus. Gegen die Annahme einer ursächlichen Bedeutung der beiden Stämme für die Entstehung der Epitheldefekte spricht auch die Tatsache, daß bei späterer Wiederholung der Versuche mit diesen Stämmen die Mundschleimhaut der Versuchstiere völlig reaktionslos blieb.

Vielleicht handelte es sich bei den beobachteten Epitheldefekten um Bißverletzungen, die bei dem gewaltsamen Offenhalten des Mauls mit der gespreizten Pinzette entstanden sind oder um Verletzungen durch die Pinzette selbst.

Die bei Kaninchen Nr. 31 beobachtete polypöse Wucherung ist nach dem beschriebenen mikroskopischen Bild auch nicht als frisches Entzündungsprodukt, das auf eine etwaige pathogene Wirkung der eingebrachten Keime zurückzuführen wäre, sondern vielmehr als eine übermäßige Regenerationsbildung der ständig mechanischen Reizen ausgesetzten Schleimhaut anzusehen.

d) Menschenpathogenität.

Da die Mundschleimhaut des Kaninchens wegen der andersartigen Ernährung vielleicht weniger disponiert für das Entstehen einer Infektion ist, als die menschliche Mundschleimhaut, habe ich auch noch in einigen Selbstversuchen die pathogene Wirkung der aus den Zahnbürsten gezüchteten gramfesten Sporenbildner geprüft.

Hierbei ging ich so vor, daß ich die zuvor sterilisierte Zahnbürste entweder mit der Abschwemmung einer Agarplattenkultur (3 ccm physiologische Kochsalzlösung auf eine Agarplatte) befeuchtete oder direkt mit der Bürste den Rasen einer Agarplattenkultur des zu prüfenden Stammes abstrich, und mit der so infizierten Bürste kräftig und längere Zeit das Zahnfleisch rieb. Dieser Vorgang wurde nach 24 Std. wiederholt.

Als begünstigendes Moment trat in diesen Versuchen noch hinzu, daß meine Mundschleimhaut in der Versuchszeit Zeichen einer leichten Entzündung zeigte; sie war schlaff und blutete leicht. Trotzdem gelang es nicht, mit Keimen der geprüften Stämme im Selbstversuch eine Verstärkung der bestehenden Entzündung der Mundschleimhaut zu erzielen.

e) Tierpathogenität von Strepto- und Staphylokokken.

Zum Schlusse habe ich noch festzustellen versucht, inwieweit überhaupt pathogene Keime bei der in meinen Tierversuchen angewandten Versuchs-

technik imstande sind, bei Tieren Mundschleimhautaffektionen zu erzeugen. Ich verwandte hierzu einen hämolytischen Streptokokkenstamm und zwei hämolytische Staphylokokkenstämme. Die Versuchsanordnung war die gleiche wie die bei der Verimpfung der Zahnbürstenstämme angewandte. Auch hierbei gelang es mir nicht, eine Stomatitis zu erzeugen.

Ich komme also zu dem Schluß, daß es bei intakter oder nur ganz oberflächlich skarifizierter Mundschleimhaut nicht gelingt, durch Aufbringung von Subtilis-, Mesentericus- und ähnlichen Bakterien, selbst in so großen Mengen, wie sie praktisch kaum jemals auf die Schleimhaut gelangen, eine Stomatitis zu erzeugen. Selbst die bekannten pathogenen Eitererreger scheinen bei dieser Infektionsart die Mundschleimhaut des Kaninchens nicht zu beeinflussen. Es muß also angenommen werden, daß die normale Mundschleimhaut über genügende Abwehrkräfte verfügt, um dieser Infektionen Herr zu werden. Dagegen ist es durchaus denkbar, daß bei einer besonderen Disposition der Mundschleimhaut, z. B. bei geschwächtem Gesamtorganismus, die beschriebene Infektionsart zur Entstehung von Entzündungen der Mundschleimhaut führen kann.

Zusammenfassung.

1) Bei der bakteriologischen Untersuchung von Zahnbürsten konnten die Versuchsergebnisse von Viefhaus bestätigt werden, daß in den im Handel befindlichen Zahnbürsten zahlreiche aerobe, gramfeste Sporenbildner vorhanden sind.

2) Einige dieser aus den Zahnbürsten gezüchteten Sporenbildner vermochten eine, wenn auch nicht so starke und ebenso schnell eintretende Bakteriolyse von anderen Keimen zu erzielen, wie sie Much bei einigen Mycoidesstämmen beobachtete.

3) Es gelang jedoch nicht, und zwar weder durch Einbringung dieser Bakterien, noch auch der übrigen aus Zahnbürsten gezüchteten aeroben, gramfesten Sporenbildner sowie eines aus Erde gewonnenen Mycoides-Stammes in die Zahnfleischtaschen von Kaninchen, bei diesen Tieren Stomatitiden zu erzeugen.

4) Auch im Selbstversuch war es bei Anwendung dieser Versuchstechnik nicht möglich, mit den genannten Keimen entzündliche Prozesse an der Mundschleimhaut hervorzurufen.

5) Kontrollversuche, bei welchen hämolytische Strepto- und Staphylokokken in gleicher Weise in die Zahnfleischtaschen von Kaninchen eingebracht wurden, führten ebenfalls nicht zur Entstehung von Stomatitiden.

Zum Schluß meiner Arbeit ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Professor Dr. W. Pfannenstiel für die Anregung zu den vorliegenden Untersuchungen und Herrn Dr. A. Beck für die wertvolle Unterstützung bei der Ausführung der Arbeit meinen herzlichen Dank auszusprechen.

Literaturverzeichnis.

1) Abel, R., Zbl. Bakter. I Orig. **24**, 1 (1898). — 2) Bernheim, J., Zbl. Bakter. I Orig. **23**, 177 (1898). — 3) Bernheim, J., u. Pospischill, D., Jb. Kinderheilk. **46**, 434 (1898). — 4) Carpano, M., Zbl. Bakter. I Orig. **74**, 225 (1914). — 5) Ellermann, V., Zbl. Bakter. I Orig. **37**, 729 (1904). — 6) Fiessinger, N., u. Barrieu, R., Zbl. Bakter. I Ref. **71**, 158 (1921). — 7) Fischer, T., Z. Hyg. **49**, 329 (1905). — 8) Fleischner, R., Zbl. Bakter. I Orig.

99, 546 (1926). — 9) Frese, O., Z. Laryng. **3**, 455 (1911). — 10) Frühwald, F., Jb. Kinderheilk. **29**, 200 (1889). — 11) Kayser, B., Zbl. Bakter. I Orig. **33**, 241 (1903). — 12) Kimmelstiel, P., Zbl. Bakter. I Orig. **89**, 113 (1923). — 13) Knorr, M., Münch. med. Wschr. **77**, 582 (1930). — 14) Kranz, P., Z. Stomatol. Nr **12**, 737 (1921). — 15) Lehmann-Neumann, Bakteriologische Diagnostik, 7. Aufl., 1927. — 16) Lubenau, Zbl. Bakter. I Orig. **40**, 433 (1906). — 17) Lindberg, G., Zbl. Bakter. I Orig. **78**, 302 (1916). — 18) Michalski, J., Zbl. Bakter. I Orig. **36**, 212 (1904). — 19) Morian, K., Münch. med. Wschr. **52**, 1584 (1905). — 20) Much, H., u. Sartorius, J., Med. Klin. **1924**, Nr 11. — 21) Mühlens, P., Z. Hyg. **55**, 81 (1906). — 22) Rona, S., Arch. f. Dermat. **74**, 171 (1905). — 23) Schiller, J., Zbl. Bakter. I Orig. **91**, 68 (1924); **109**, 482 (1928); **118**, 163 (1930). — 24) Seidel, H., Dtsch. Zahnheilk. **41** (1919). — 25) Seitz, A., Zbl. Bakter. I Orig. **70**, 113 (1913). — 26) Seitz, J., Z. Hyg. **30**, 47 (1899). — 27) Senge, J., Zbl. Bakter. I Orig. **70**, 353 (1913). — 28) Silberschmidt, W., Ann. Inst. Pasteur **17**, 268 (1903). — 29) Stregulina, A., Z. Hyg. **51**, 18 (1905). — 30) Viefhaus, K., Arch. f. Hyg. **107**, 155 (1932). — 31) Weinhard, Dermat. Z. **31**, 182 (1920).

Lebenslauf.

Am 15. August 1908 wurde ich, Fritz Brünninghaus, als Sohn des Pfarrers Heinrich Brünninghaus und seiner Ehefrau Anna, geb. Nolte, in Brilon i. Westf. geboren. Von Ostern 1914—1918 besuchte ich dort die ev. Volksschule, kam dann zum Gymnasium in Brilon und legte dort Ostern 1928 meine Reifeprüfung ab. Bis Ostern 1929 studierte ich in Marburg Jura. Vom Sommersemester 1929 ab widmete ich mich dem Studium der Zahnheilkunde zunächst auch in Marburg. Im Wintersemetser 1929/30 ging ich nach Würzburg, wo ich 3 Semester studierte. Im Herbst 1930 bestand ich dort die zahnärztliche Vorprüfung. Seit dem Sommersemester 1931 studierte ich wieder in Marburg, wo ich im November 1932 die zahnärztliche Prüfung bestand. In der folgenden Zeit habe ich mich bis jetzt dem zahnärztlichen Studium und den vorliegenden Untersuchungen gewidmet. Meine akademischen Lehrer waren:

zu Marburg: Arndt, Baur, Boeminghaus, Brammer, Eimer, Fliege, Grüneisen, Loebell, Meerwein, Nauck, Pfannenstiel, von Reckow, Ruete, Schubert, Seidel.

zu Würzburg: Ackermann, Dimroth, von Frey, Gabbe, Harms, Jander, Kadanoff, Petersen, Münch, Schmidt, Schriever, Steidle, Wustrow.